

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. D. Klaus

ZUR EPIDEMIOLOGIE UND DIAGNOSTIK DER HYPERLIPOPROTEINÄMIE TYP III (BROAD- β -DISEASE)

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Michael Maurer
aus Augsburg

Marburg 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. D. Klaus

ZUR EPIDEMIOLOGIE UND DIAGNOSTIK DER
HYPERLIPOPROTEINÄMIE TYP III (BROAD- β -DISEASE)

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Michael Maurer
aus Augsburg

Marburg 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 18. 12. 1973

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. med. H. Oepen

Referent: Prof. Dr. med. H. Keffarnik

Correferent: Prof. Dr. med. dent. H. Schnell

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung und Fragestellung	1
2. Methodik	4
3. Ergebnisse	16
4. Diskussion	24
5. Zusammenfassung	27
6. Literaturverzeichnis	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Neben Bluthochdruck, Übergewichtigkeit, Diabetes mellitus, bestimmten Umweltfaktoren und Zigarettenrauchen gehören auch erhöhte Plasmalipidwerte zu den sogenannten Risikofaktoren der Arteriosklerose (4, 25, 32, 34, 46). Deutliche Hinweise hierfür erbrachten prospektive Langzeitstudien, die in verschiedenen Ländern unabhängig voneinander durchgeführt wurden (1, 2, 3, 5, 7, 18, 24, 25, 26, 27, 30, 31, 37, 44). Heute ist die zentrale Stellung der sogenannten Plasmalipoproteine - spezifischer Glykoprotein-Lipid-Komplexe - in den pathophysiologischen Zusammenhängen der Arteriosklerose erkannt, was wir vor allem den grundlegenden Untersuchungen von GOFMAN, LINDGREN et al. (14, 15, 28, 29,) und der Arbeitsgruppe um SCHETTLER (38, 39, 40) verdanken. Durch die Weiterentwicklung der elektrophoretischen Trennungsmöglichkeiten der einzelnen Lipoproteinfraktionen gelang es dann FREDRICKSON et al. (12), System in das bis dahin herrschende Durcheinander der Termini, die die Fettstoffwechselstörungen betrafen, zu bringen. So konnten FREDRICKSON et al. die familiären Hyperlipoproteinämien in fünf voneinander verschiedene Typen einteilen, die sich sowohl prognostisch als auch therapeutisch unterscheiden (Tab. 1.1.). Hyperlipoproteinämien treten sowohl essentiell als auch symptomatisch auf (Tab. 1.2.).

Ziel dieser Arbeit war es, die Häufigkeit der Hyperlipoproteinämie Typ III im Krankengut der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg festzustellen und dabei zu prüfen, ob eine Identifizierung mit Hilfe der Lipoproteinelektrophorese genügt, oder ob in jedem Fall eine Ultrazentrifugation mit nachfolgender Elektrophorese zur einwandfreien Diagnose erforderlich ist.

Tab. 1.1.: Befunde bei den einzelnen Typen der essentiellen Hyperlipoproteinämien

Typ	I	IIa	IIb	III	IV	V
Chylomikronen	stark erhöht	normal	normal	normal	normal	erhöht
β-Lipoproteine	normal	vermehrt	vermehrt	path. Lipoprotein mit breiter β-Bande	normal	normal
Prä-β-Lipoproteine	normal	normal	erhöht	erhöht	erhöht	erhöht
Cholesterin	normal bis leicht erhöht	erhöht	erhöht	erhöht	leicht erhöht	leicht erhöht
Triglyzeride	stark erhöht	normal	erhöht	erhöht	erhöht	erhöht
Induzierbar durch Fett	+	-	-	-	-	+
Induzierbar durch Kohlenhydrate	-	-	+	+	+	+
Serumtrübung	+	-	-/+	-/+	+/-	+
Lipolytische Aktivität nach Heparin	vermindert	normal	normal	normal	normal	normal oder vermindert
Glukosetoleranz	normal	normal	normal bis vermindert	normal bis vermindert	normal bis vermindert	normal bis vermindert

Tab. 1.2.: Erkrankungen bzw. medikamentöse Einflüsse,
bei denen symptomatische Hyperlipoprotein-
ämien auftreten können

Diabetes mellitus
Pancreatitis
Nephrotisches Syndrom
Biliäre Leberzirrhose
Langdauernde Cholestase
Chronischer Alkoholismus
(Zieve-Syndrom)
Akute Alkoholintoxikation
Hypothyreose
v.-Gierke-Glykogenose
Gicht
Hämochromatose
Ovulationshemmer
Steroide

2. METHODIK

2.1. Patienten

Von etwa 4.000 Patienten (einem knappen Drittel des Jahresdurchganges der Medizinischen Universitäts-Poliklinik) wurden im Jahre 1971/72 bei allen, die erhöhte Blutfettwerte aufwiesen, routinemäßig Lipoproteinelektrophoresen angefertigt. Seren, die wegen einer abnormen Anfärbbarkeit im Bereich zwischen der β - und der Prä- β -Lipoprotein-Bande nicht eindeutig zu typisieren waren, wurden in der Ultrazentrifuge fraktioniert. Von den erhaltenen Fraktionen LDL + HDL und VLDL wurden wieder Elektrophoresen gemacht.

2.2. Blutprobengewinnung

Bei den zur Nachuntersuchung einbestellten Patienten handelte es sich um neun Frauen und dreizehn Männer. In der Einbestellung waren sie dazu angehalten worden, am Abend vor der Blutentnahme nur eine leichte, fettarme Mahlzeit einzunehmen, sowie das Frühstück ausfallen zu lassen. Nach eigenen Angaben hatten sich alle Patienten an diese Vorschrift gehalten. Jedem wurden aus der leicht gestauten Armvene etwa zehn Milliliter Blut entnommen. Dies geschah in allen Fällen vormittags.

2.3. Serumgewinnung und -lagerung

Spätestens dreißig Minuten nach Entnahme wurde das Blut bei $3.000 \frac{U}{min}$ für zehn Minuten zentrifugiert und das auf diese Weise gewonnene Serum zum einen Teil bei $+4^{\circ}C$ im Kühlschrank bis zur Weiterverarbeitung in der Ultrazentrifuge gelagert, während ein anderer Teil des Serums unmittelbar im Anschluß an die Abtrennung vom Blutkuchen auf seinen Gehalt an Cholesterin und an Triglyzeriden geprüft wurde.

2.4. Weiterverarbeitung des Serums

2.4.1. Bestimmung des Gesamtcholesterins

Die Bestimmung des Gesamtcholesterins wurde durchgeführt nach der Methode von WATSON (45), modifiziert von RICHTERICH und LAUBER (36).

Prinzip:

Die Methode beruht auf der Farbreaktion von LIEBERMANN und BURCHARDT. Sterine geben in wasserfreiem Milieu mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure eine blaugrüne Färbung durch Bildung polymerer Kohlenwasserstoffe. Statt einer vollständigen Eiweißfällung erfolgt eine teilweise Dispersion und eine teilweise Präzipitation durch Zugabe von methylierten Benzolsulfonsäuren.

Chemikalien: Eisessig p.a.

Cholesterin reinst

Essigsäureanhydrid p.a.

konz. Schwefelsäure p.a.

2,5-Dimethylbenzolsulfonsäure p.a.

Reagentien:

Cholesterinstandard: 200 mg Cholesterin wurden mit Eisessig auf 100 ml gelöst.

Die Lösung muß bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, da Cholesterin sonst auskristallisiert.

Cholesterinreagenz: Es wurde eine Lösung mit den Konzentrationen 7 M Essigsäure, 6,5 M Essigsäureanhydrid und 50 mM 2,5-Dimethylbenzolsulfonsäure hergestellt.

Die Lösung ist bei Raumtemperatur etwa ein Jahr haltbar.

Durchführung:

In Mikroreaktionsgefäße wurden 0,02 ml Serum bzw. 0,02 ml Cholesterinstandard bzw. 0,02 ml aqua bidest. für den Leerwert und danach in alle Reaktionsgefäße 0,5 ml Cholesterinreagenz pipettiert. Die Gefäße wurden geschüttelt und für fünf Minuten in ein Wasserbad von 25°C gestellt. Daraufhin wurde in jedes Reaktionsgefäß 0,1 ml konz. Schwefelsäure gegeben, wieder gemischt und für weitere zehn Minuten ins Wasserbad gestellt. Unter Verwendung eines Filters von 578 nm wurden dann bei 1 cm Schichtdicke der Küvette die Extinktionen des Standards und der einzelnen Seren im Photometer Eppendorf gegen den Leerwert gemessen.

Berechnung:

Nach dem LAMBERT-BEERSchen Gesetz gilt, daß sich die Konzentrationen eines Stoffes im gleichen Lösungsmittel wie die Extinktionen verhalten:

$$\frac{c_p}{c_s} = \frac{E_p}{E_s}$$

wobei c die Konzentration, E die Extinktion, die Indices p bzw. s Probe bzw. Standard bedeuten.

c_s ist mit $200 \frac{\text{mg}}{100 \text{ ml}}$ bekannt, so daß sich mit den gemessenen Extinktionen E_p und E_s für die zu bestimmende Konzentration c_p folgende Gleichung ergibt:

$$c_p = \frac{200 \cdot E_p}{E_s} \frac{\text{mg}}{100 \text{ ml}}$$

Kritik:

Bei der hier durchgeführten Methode werden die sonst übliche Extraktion und Enteiweißung umgangen. Dadurch verringert sich die Zahl der Arbeitsschritte und damit auch die Fehlerbreite. Hämolytische und ikterische Seren verfälschen die Ergebnisse gravierend!

2.4.2. Bestimmung der Triglyzeride

Die Bestimmung der Triglyzeride erfolgte nach der Methode von EGGSTEIN (8), KREUTZ (9) und SCHMIDT et al. (41).

Prinzip:

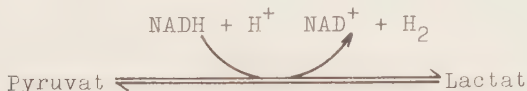
Die Triglyzeride werden enzymatisch über ihren Glyzeringehalt bestimmt. Dabei wird nach der Verseifung der Fette das entstandene Glyzerin in der durch das Enzym Glycerokinase (GK) katalysierten Reaktion mit Hilfe von ATP zu Glyzerin-1-phosphat phosphoryliert:



Durch das Enzym Pyruvatkinase (PK) wird das entstandene ADP durch Phosphoenolpyruvat (PEP) unter Bildung von Pyruvat wieder in ATP übergeführt:



Pyruvat wird nun durch NADH mittels Lactatdehydrogenase (LDH) zu Lactat reduziert, wobei NADH zu NAD^+ oxidiert wird:



Die während der Reaktion verbrauchte NADH-Menge ist äquivalent der vorhandenen Glyzerinmenge. NADH ist also Meßgröße und auf Grund seiner Absorption bei einer Wellenlänge von 366 nm leicht zu bestimmen.

Chemikalien: Triäthanolaminpuffer

MgSO_4 reinst

NADH

Phosphoenolpyruvat

ATP
Lactatdehydrogenase
Pyruvatkinase
Glyzerokinase
 MgSO_4 -Lösung (etwa 0,15 M)
äthanolisches KOH (etwa 0,5 M)

Reagentien:

Lösung (1): Puffer: 4 mM Triäthanolaminpuffer und 0,16 mM MgSO_4 werden in 40 ml aqua bidest. gelöst; es resultiert ein pH von 7,6.
Die Lösung ist bei Raumtemperatur 1 Jahr haltbar.

Lösung (2): 3,6 μM NADH, 19,8 μM ATP und 6,6 μM PEP werden in 0,6 ml aqua bidest. gelöst.
Die Lösung ist bei +4°C zwei Wochen haltbar.

Lösung (3): 2 mg LDH und 1 mg PK sind in einem Milliliter der Suspension enthalten.
Die Suspension ist bei +4°C etwa ein Jahr haltbar.

Lösung (4): 2 mg GK sind in einem Milliliter Suspension enthalten.
Die Haltbarkeit bei +4°C beträgt ebenfalls etwa ein Jahr.

Durchführung:

Von jedem Serum wurden 0,2 ml in ein Zentrifugenglas pipettiert, 0,5 ml der äthanolischen Kalilauge dazugeben und kräftig durchgemischt. Die verschlossenen Zentrifugenröhrchen wurden dann für etwa dreißig Minuten in ein Wasserbad von 55 - 70°C gestellt und danach wieder auf Raumtemperatur abgekühlt. Hierauf wurde in jedes Glas 1,0 ml MgSO_4 -Lösung pipettiert, gut gemischt, acht Minuten bei 5.000 $\frac{\text{U}}{\text{min}}$ zentrifugiert und 0,2 ml des klaren Überstandes zur Glyzerinbestimmung abgenommen.

Für diese Glyzerinbestimmung wurden von Lösung (1) 1,0 ml, von Lösung (2) 0,05 ml, die nach der Verseifungsreaktion abgenommenen 0,2 ml Überstand und von Lösung (3) 0,01 ml in eine Küvette mit einem Zentimeter Schichtdicke pipettiert, mit einem Plastikspatel durchgemischt und das Ganze bei Raumtemperatur für etwa zehn Minuten stehen gelassen. Dann wurde mit einem Filter von 366 nm die Extinktion im Photometer Eppendorf gegen Luft gemessen (E_1). Anschließend wurden noch von Lösung (4) 0,01 ml zugegeben, abermals durchgemischt und nach zehn Minuten wieder die Extinktion gegen den Leerwert Luft bestimmt (E_2).

Berechnung:

Für die Berechnung von Substratkonzentrationen gilt allgemein die Formel:

$$c = \frac{MG}{\epsilon \cdot d \cdot 10} \cdot \frac{V}{v} \cdot F \cdot \Delta E \frac{mg}{100 ml}$$

Der Extinktionskoeffizient ϵ von NADH beträgt bei 366 nm $3,3 \frac{cm}{\mu Mol}$.

Die Schichtdicke der Küvette d ist 1 cm.

Der Gehalt an Neutralfett wird über seinen Glyzerinanteil berechnet. Das mittlere Molekulargewicht der Serumtriglyzeride beträgt 885, das des Glyzerins 92. Außerdem muß die durch die Verseifung eingetretene Verdünnung berücksichtigt werden, was mit Hilfe des Faktors F geschieht:

$$F = \frac{885 \cdot 1,70}{92 \cdot 1 \cdot 0,2} = 81,69$$

V ist das Volumen der insgesamt in die Küvette einpipettierten Lösungsmengen (1,27 ml), v das Volumen des eingesetzten Überstandes der Verseifungsreaktion (0,2 ml).

Für ΔE gilt: $\Delta E = E_1 - E_2$.

Berücksichtigt man nun noch den Durchschnittsgehalt des Serums an freiem Glyzerin mit $1,0 \frac{mg}{100 ml}$, was nach den oben angeführten Molekulargewichten etwa $10 \frac{mg}{100 ml}$

Neutralfett entspricht, so ergibt sich für die Konzentration der Triglyzeride im Serum folgende Bestimmungsgleichung:

$$c = (1432 \cdot \Delta E - 10) \frac{\text{mg}}{100 \text{ ml}}$$

2.4.3. Lipoproteinelektrophorese

Die Lipoproteinelektrophorese wurde nach der Methode von KAHLKE, RAPP und SCHLIERF (21, 22, 23) auf Agarose-Gel durchgeführt.

Prinzip:

Wie alle anderen Proteine wandern auch die Lipoproteine bei schwach alkalischem pH von der Kathode zur Anode. Mit einem Farbstoff, der nur Lipide anfärbt (z.B. Sudanschwarz, Ölröt-O), kann man dann die von den Lipoproteinen transportierten Fette und fettähnlichen Stoffe und damit auch indirekt wieder die Lipoproteine zur Darstellung bringen.

Apparatur: Elektrophoresegerät UG I^(*)
Kunststofftrennkammern^(*)
Querstanze^(*) (1,2 x 0,2 cm)
Wasserstrahlpumpenansatz^(*)
Glasplatten (12 x 9 x 0,1 cm)

Chemikalien: Eisessig p.a.
Glyzerin bidest. (ca. 87 %) p.a.
Aceton p.a.
Äthanol 96 %ig
NaOH 1 n
Agarose reinst^(**)
Agarose Instant-Gel A-08-82 (pH 8,2)^(**)
Veronal-Natrium-Phosphat-Puffer^(**)
Human-Albumin trocken reinst^(***)

* Hersteller: Fa. Desaga, 6900 Heidelberg 1, Römerstr. 118
** " : Fa. Serva, 6900 Heidelberg 1, Postfach 407
*** " : Behringwerke AG, 3550 Marburg/Lahn

Bromphenolblau

Sudanschwarz (für die Mikroskopie)

Gele und Lösungen:

Haftgel: Es wurden etwa 9 g Agarose mit 300 ml aqua bidest. aufgekocht.

Trägergel: Ein Röhrchen Instant-Gel (Handelspräparat aus Veronal-Na-Phosphatpuffer und Agarose) wurde mit aqua bidest. (100 ml) aufgekocht, dann unter fließendem Wasser auf 60°C abgekühlt und mit 0,2 g Humanalbumin klar geschwenkt.

Elektroden-Pufferlösung:

Der Inhalt eines Röhrchens mit Puffersubstanz wurde mit 1 l aqua dest. aufgefüllt. Die Lösung hat ein pH von 8,2.

Fixierlösung: 40 ml Eisessig und 100 ml Glyzerin wurden mit aqua bidest. auf 2 l aufgefüllt.

Färbelösung: 1,93 g Sudanschwarz wurden mit 1,2 l Äthanol vermischt; mit aqua bidest. wurde dann auf 1,92 l aufgefüllt. Abschließend wurden noch 10 ml 1 n NaOH zugegeben.

Durchführung:

Die Glasplatten wurden zur völligen Entfettung etwa fünfzehn Minuten in Aceton gelegt. In dieser Zeit wurde das Haftgel zubereitet. Nachdem die Glasplatten trocken waren, wurden sie mit Haftgel bestrichen und vor einem Ventilator getrocknet. Währenddessen wurde das Trägergel hergestellt, von dem dann jeweils etwa 50 ml in eine Trennkammer gegossen wurde. Darüber wurde die Glasplatte gelegt. Die Kammer wurde dann zum Erstarren des Gels zwei Stunden auf den Kühlblock des Elektrophoresegerätes gebracht.

Mit der Querstanze wurden danach aus dem verfestigten Gel pro Platte vier Gräben ausgestanzt und mit der Was-

serstrahlpumpe leergesaugt. Daraufhin wurden die zu untersuchenden Seren vorbereitet, und zwar in der Weise, daß von klaren Seren 0,2 ml mit 0,1 ml physiologischer Kochsalzlösung und 0,2 ml des Trägersgels, von trüben Seren hingegen 0,1 ml mit 0,3 ml der physiologischen Kochsalzlösung und 0,6 ml des Trägersgels gemischt wurden. Von diesen Serumlösungen wurden dann in die ausgestanzten Gräben jeweils 30 μ l eingefüllt und diese wieder mit einem Tropfen des Trägersgels verschlossen. Auf gleicher Höhe mit den vier Gräben für die Seren wurde am Rande jeder Glasplatte ein punktförmiges Loch ausgestanzt, in das Bromphenolblau gegeben wurde.

Nach einer Laufzeit von zweieinhalb bis drei Stunden bei einer elektrischen Feldstärke von ca. $10 \frac{V}{cm}$, was etwa einer Stromstärke von 40 mA entspricht, wurde die Elektrophorese abgebrochen, die Kammer mit der Fixierlösung bedeckt und das Ganze eine halbe Stunde stehen gelassen. Hierauf wurde die Glasplatte aus der Trennkammer herausgeschnitten, mit nassem Filterpapier bedeckt und zwölf Stunden vor einem Ventilator getrocknet. Anschließend wurden die Platten in der Sudan-schwarz-Lösung gefärbt, mit destilliertem Wasser abgespült und wieder getrocknet.

Kritik:

Die Lipoproteinelektrophorese in Agarose-Gel bietet gegenüber früher geübten Verfahren (z.B. Papierelektrophorese) den Vorteil einer kürzeren Laufzeit. So können sekundäre Veränderungen der Lipoproteine auf ein Minimum reduziert werden, ein Faktor, der auch durch die ständige Kühlung der Platten gewährleistet wird. Die Anfärbung des Hintergrundes läßt sich nach Anfärbung der Lipoproteine im Entfärbebad weitgehend auswaschen. Die Verwendung von Bromphenolblau als Markersubstanz gestattet eine laufende Kontrolle über die bereits von dem " schnellsten " Protein, dem Albumin, zurückgelegte Strecke und gewährleistet darüber hinaus noch eine hinreichende Reproduzierbarkeit.

Ein Nachteil ist, daß die Chylomikronen zum kleineren Teil doch wandern und schlieren, und daß bei hohen Prä- β -Konzentrationen (Triglyzeride > 1.000 mg%) diese z. T. an der Auftragstelle liegenbleiben und zum Schlieren oder " Schwänzen " bis in den Prä- β -Bereich führen.

2.4.4. Präparative Ultrazentrifugation

Die Ultrazentrifugation wurde nach der Methode von GOFMAN, DE LALLA (6, 14, 15) und LINDGREN unter Berücksichtigung eigener Erfahrungen durchgeführt.

Prinzip:

Die Lipoproteine umfassen einen Dichtebereich von $\rho = 0,92 - 1,21 \frac{g}{ml}$, im Gegensatz zu den Lipiden ($\rho = 0,88 - 0,90 \frac{g}{ml}$) und zu den Proteinen ($\rho = 1,30 - 1,35 \frac{g}{ml}$). Dabei nehmen sie aber nicht ein kontinuierliches Spektrum ein, sondern bilden gewisse Konzentrationsmaxima und -minima aus; letztere gelten als Grenzichten der Lipoproteine bei der präparativen Ultrazentrifugation. Durch die Wahl eines Lösungsmittels mit bestimmter Dichte lassen sich die Lipoproteine also teils zum Sedimentieren, teils zum Flotieren bringen und auf diese Weise voneinander abtrennen. Zwischen

den so und den in einer Lipoproteinelektrophorese getrennten Lipoproteinen bestehen Beziehungen der Art, daß die VLDL, LDL und HDL^(*) der Ultrazentrifugation - in entsprechender Reihenfolge - den Chylomikronen plus Prä- β -, den β - und den α -Lipoproteinen der Elektrophorese entsprechen.

Da es sich bei der Hyperlipoproteinämie Typ III um eine Stoffwechselerkrankung handelt, bei der ein abnormes Lipoprotein in der Elektrophorese wie ein LDL wandert, sich seiner Dichte nach jedoch wie ein VLDL

(*) VLDL: Very-low-density-lipoprotein
LDL : Low-density-lipoprotein
HDL : High-density-lipoprotein

verhält, muß zur Auftrennung in der Ultrazentrifuge als Dichte des Lösungsmittels die Grenzdichte zwischen den LDL und den VLDL entsprechend $1,005 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ gewählt werden.

Chemikalien: NaCl reinst

Lösungsmittel: Es wurden 8,767 g NaCl in 1 l aqua bi-dest. gelöst. Es resultiert eine 0,15 M Lösung mit der Dichte $\rho = 1,005 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$. Die Lösung muß stets gut verschlossen aufbewahrt werden, da sich sonst ihre Dichte verändert!

Apparatur: MSE Automatic * Superspeed * 50 Centrifuge^(*)
MSE Rotor (Radius 7,1cm)^(*)
Polypropylen Centrifuge Tubes
MSE No. 59629 0271^(*)
Röhrchendeckel 9,10 bzw. 9,25 g^(*)

Durchführung:

Vor der Präparation in der Ultrazentrifuge hatten die Seren nicht länger als 48 Stunden bei $+4^{\circ}\text{C}$ im Kühlschrank gestanden. In einem Arbeitsgang wurden jeweils ein bis drei Seren auf einmal aufgetrennt. Dazu wurden die Zentrifugenröhrchen mit je etwa 2 ml Serum, das mit ca. 3 ml der oben beschriebenen NaCl-Lösung gemischt worden war, beschickt und diese Serumlösung dann noch mit rund 1 ml der Kochsalzlösung überschichtet. Die Ausrüstung des beschickten Rotors erfolgte auf Tausendstel Gramm zur Vermeidung von Unwuchten beim Lauf, die Turbulenzen in den Zentrifugenröhrchen hervorrufen würden.

Eine Viertelstunde vor Beginn jedes Laufes wurden sowohl die Ultrazentrifuge wie auch der Rotor auf $+8$ bis $+12^{\circ}\text{C}$ vorgekühlt. Diese Temperatur wurde bis zum Ende des Laufes von 20 Stunden Dauer bei ca. $36.000 \frac{\text{U}}{\text{min}}$

^(*) Hersteller: Measuring and Scientific Equipment Ltd.,
25 - 28 Buckingham Gate, London SW 1, England

entsprechend einem RCF-Wert^(*) von 105.000 " g " beibehalten.

Der Überstand wie auch das Sediment wurden vorsichtig, jeweils für sich abpipettiert und nach spätestens drei Tagen Lagerung im Kühlschrank bei +4°C wieder einer Lipoproteinelektrophorese nach der oben angegebenen Methode unterzogen.

Kritik:

Die Sedimentation der Lipoproteine, wie auch ihre Flotation, hängt außer von der Dichte des Lösungsmittels auch von dessen Ionenstärke ab. Diese ist im vorliegenden Fall aber vernachlässigbar klein (0,15 $\frac{\text{M}^2 \cdot \text{s}^2 \cdot \text{mol}}{\text{L}^2}$ bei Nichtbeachtung des verdünnten Serums); bei der analytischen Ultrazentrifugation spielt die Ionenstärke, wie auch der Johnston-Ogston-Effekt, der die bei der Sedimentation und Flotation der Proteine auftretenden Verdünnungs- bzw. Konzentrationseffekte beschreibt, eine wesentlich größere Rolle.

(*) RCF = Relative Centrifugal Force = $\frac{\text{Zentrifugalkraft}}{\text{Gravitationskraft}} = \frac{\omega^2 \cdot r}{g}$
 $= 1,119 \cdot 10^{-3} \cdot r \cdot (\text{rpm})^2$; (r = Radius des Rotors in Meter,
rpm = Umdrehungen pro Minute)

3. ERGEBNISSE

Bei der klinisch-chemischen Untersuchung der Seren von 4.000 Patienten wurden 395 Fälle mit erhöhten Blutfettwerten festgestellt. Unter diesen 395 Patienten wiesen mit 22 Fällen knapp 6 % in der Routineelektrophorese eine breite Bande im β - und Prä- β -Bereich auf und waren somit verdächtig, an einer Hyperlipoproteinämie Typ III zu leiden (Tab. 3.1. und Tab. 3.2.). Ein Beispiel einer derartigen verdächtigen Elektrophorese zeigt Abb. 3.1.:



$\zeta > 1,006 \frac{g}{ml} \quad 1,006 \frac{g}{ml} > \zeta$

Abb. 3.1.1.

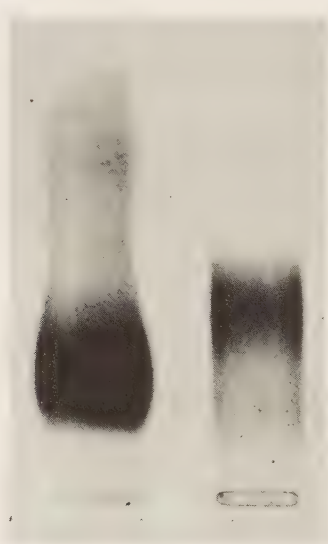


Abb. 3.1.2.

Abb. 3.1.1.: Patient H. L., Serum vor der Ultrazentrifugation

Abb. 3.1.2.: Patient H. L., Elektrophorese von Sediment und Überstand nach der Ultrazentrifugation

In den Lipoproteinelektrophoresen, die nach präparativer Ultrazentrifugation bei einer Dichte von $\rho = 1,005 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ durchgeführt wurden, konnte jedoch das Vorhandensein eines "floating- β "-Lipoproteins nur in zwei Fällen nachgewiesen werden, auf die im Folgenden noch etwas näher eingegangen sei.

Tab. 3.1.: Alter, Größe und Gewicht der Patienten, die eine breite Bande im β - und Prä- β -Bereich aufwiesen; im rechten Teil der Tabelle (nächste Seite) sind noch Glukosetoleranz, Cholesterin- und Triglyzeridwerte und der nach Ultrazentrifugation festgestellte Typ der Hyperlipoproteinämie aufgetragen

Pat.	Alter	Geschlecht	Gewicht (kg)	Größe (cm)
E. B.	65	f	56,5	160
M. F.	57	f	67,0	158
K. F.	40	m	87,0	174
W. F.	52	m	72,0	169
F. G.	64	m	77,5	172
W. H.	47	m	73,0	170
H. K.	50	m	75,0	181
A. La.	54	f	60,0	160
A. Le.	77	f	70,5	153
H. L.	22	m	131,5	176
W. M.	49	m	81,0	167
J. Me.	59	m	76,0	168
J. Mu.	47	m	77,5	168
V. P.	73	m	53,0	164
T. P.	73	f	49,5	153
K. R.	45	m	80,0	167
E. R.	33	m	96,0	183
A. S.	62	f	75,0	164
A. Sch.	72	f	55,0	157
T. Sch.	53	f	74,0	162
G. Sch.	42	m	81,5	178
E. S.	59	f	73,5	161

Glukose- Toleranz	Cholesterin (mg%)	Triglyzeride (mg%)	Typ HLP
----	666	440	II b
----	400	455	II b
----	380	192	II a
----	345	230	II a
----	315	242	II a
----	350	250	II a
----	267	205	II a
----	400	460	II b
abnorm	320	192	II a
abnorm	248	242	II b
----	355	205	II a
abnorm	385	198	II a
----	465	248	II b
abnorm	290	218	II a
----	365	390	II b
----	315	235	II b
abnorm	410	865	III
----	395	190	II a
abnorm	380	425	II b
----	390	220	II b
----	365	350	II b
abnorm	315	310	III

Tab. 3.2.: Die bei den Patienten früher gestellte Diagnose und der nach Ultrazentrifugation festgestellte Typ der Hyperlipoproteinämie (HLP)

Pat.	früher gestellte Diagnose	Typ HLP
E. B.	Varicosis cruris, Cholelithiasis, Adipositas	II b
M. F.	Hyperlipidämie	II b
K. F.	Hypercholesterinämie, Hypertonie, Adipositas	II a
W. F.	Coronarsklerose bei Hyperlipidämie	II a
F. G.	Verdacht auf Coronarsklerose bei Hyperlipidämie	II a
W. H.	Zustand nach Herzinfarkt, Hyperlipämie	II a
H. K.	Verdacht auf Fettleber	II a
A. La.	Rechtsherzinsuffizienz, Hypercholesterinämie	II b
A. Le.	Zustand nach Herzinfarkt, Coronarsklerose, Elastizitätshochdruck, Diabetes, Verdacht auf Fettleber	II a
H. L.	excessive alimentäre Adipositas, diabetische Stoffwechsellaage	II b
W. M.	Gastritis, Hypercholesterinämie	II a
J. Me.	Diabetes, chronische Otitis rechts	II a
J. Mu.	Glomerulonephritis mit nephrotischem Einschlag	II b
V. P.	Diabetes mit Leberverfettung	II a
T. P.	Verdacht auf Schrumpfnieren, Hypertonus, Osteoporose, Fettstoffwechselstörung	II b
K. R.	Coronarsklerose bei Hyperlipämie, Verdacht auf Hypertonus	II b
E. R.	Verdacht auf coronare Durchblutungsstörungen, Hyperlipidämie	III
A. S.	Verdacht auf Hyperthyreose, Polyarthrose	II a
A. Sch.	Altersdiabetes	II b
G. Sch.	Verdacht auf Hyperlipoproteinämie	II b
T. Sch.	Coronarinsuffizienz, Hypercholesterinämie	II b
E. S.	Hyperlipidämie, Coronarinsuffizienz	III

Fallberichte:

Patient E. R. - Es handelt sich um einen 33-jährigen Mann, der vor neun Jahren zum erstenmal das Auftreten von Hautveränderungen an sich beobachtet hatte. Nachdem beim Hausarzt eine Erhöhung der Blutfettwerte festgestellt worden war, bekam er mehrere Jahre lang Lipostabil^(R), später auch Quantalan^(R) und zwischenzeitlich Regelan^(R), ohne daß sich jedoch die Hauterscheinungen eindeutig veränderten. Der Patient wurde dann an die Medizinische Universitäts-Poliklinik Marburg überwiesen.

Bei der hier durchgeführten Untersuchung fanden sich deutliche Xanthome im Bereich der Ellenbogen (Abb. 3.2.1.) und der Knie (Abb. 3.2.2.). Veränderungen in den Falten der Handflächen konnten nicht festgestellt werden. Die Laborbefunde waren, abgesehen von den erhöhten Cholesterin- und Triglyzeridwerten weitgehend normal: Transaminasen, LDH, alkalische Phosphatase, Gesamteiweiß, Kreatinin, Harnsäure, Calcium, Kalium und Natrium. Serumeisen war mit 159 ug% und Serumkupfer mit 188 ug% leicht erhöht. Einen ebenfalls erhöhten Wert zeigten die β -Globuline mit 17,5 rel.%. Der Gerinnungsstatus war unauffällig. Ein Leberfunktionstest mit Bromthalein war mit 1,38 mg% bereits pathologisch. Eine Leberpunktion zeigte eine nicht sehr ausgeprägte herdförmige Verfettung der Leberzellen sowie eine deutliche Siderose der Sternzellen. Der intravenöse Glukose-Assimilationstest ergab einen k-Wert von 1,2. Aus dem EKG ergaben sich die folgenden Befunde: Sinusrhythmus, Mitteltyp, ventriculäre Extrasystolie und Verdacht auf linkspräcordiale Erregungsrückbildungsstörungen. Die Röntgenuntersuchung des Thorax war unauffällig. Die bei dem Sohn des Patienten vorgenommenen Blutfettuntersuchungen lagen innerhalb der Norm.

Patient E. S. - Es handelt sich um eine 60jährige Frau. Bei ihr war vor fünf Jahren eine Hyperlipidämie festgestellt worden. Ein Jahr später befand sie sich wegen der Hyperlipidämie, einer Koronarinsuffizienz und eines allgemei-

nen Erschöpfungszustandes zur stationären Behandlung im Krankenhaus.

Die Patientin war jetzt überwiesen worden, damit bei ihr eine Diättestung durchgeführt würde. Bei der Untersuchung zeigte sich eine übergewichtige Frau. Die Lippen waren etwas cyanotisch; es bestand keine Dyspnoe. Die Lungen waren frei, Ödeme lagen nicht vor. Die Herzaktion war rhythmisch, der Blutdruck mit RR 165/70 leicht erhöht. Die Leber war deutlich vergrößert und palpabel, die Milz war nicht vergrößert, aber tastbar. Transaminasen, alkalische Phosphatase, Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin, Kalium, Natrium, Calcium, Serumeisen sowie die Elektrophorese waren normal, Urinuntersuchungen unauffällig und Rheumateste negativ. Die Blutsenkung betrug aus nicht geklärten Gründen 25/58, bei Kontrolle 30/69! Im Thoraxröntgenbild zeigte das Herz aortale Konfiguration. Ein mäßiges Emphysem sowie ein relativer Zwerchfellhochstand bei Adipositas wurden sichtbar. Außerdem gelangte eine kleine Hiatusgleithernie zur Beobachtung; ansonsten waren Oesophagus, Magen und Duodenum normal. Aus dem EKG ergaben sich für die Patientin Sinusrhythmus, Linkstyp, sowie das Vorliegen von linkspräcordialen Erregungsrückbildungsstörungen. Die unter stationärer Beobachtung durchgeführten Stoffwechseluntersuchungen bei verschiedenen Kostformen zeigten Kohlenhydrat-Induktion, also zunächst Anlaß, für die Patientin eine Hyperlipoproteinämie Typ IV zu vermuten. Die präparative Ultrazentrifugation aller während der verschiedenen Diätregimes abgenommenen Blutproben brachte erst die endgültige Diagnose: Hyperlipoproteinämie Typ III (Abb. 3.3.).

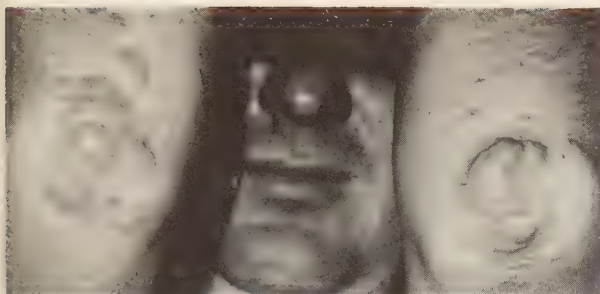


Abb. 3.2.1.

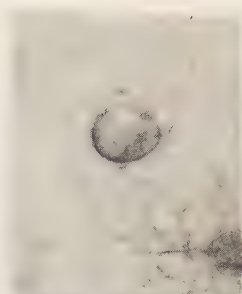


Abb. 3.2.2.

Abb. 3.2.1.: Patient E. R., große Xanthome im Bereich der Ellenbogen

Abb. 3.2.2.: Patient E. R., kleines, solitäres Xanthom am Knie



Abb. 3.3.1.



Abb. 3.3.2.

Abb. 3.3.1.: Patient E. S., unzentrifugiertes Serum

Abb. 3.3.2.: Patient E. S., Lipoproteinelektrophorese von Sediment und Überstand des in der Ultrazentrifuge fraktionierten Serums

$$\rho > 1,006 \frac{g}{ml} \quad 1,006 \frac{g}{ml} > \rho$$

4. DISKUSSION

Von etwa 4.000 in den Jahren 1971 und 1972 hinsichtlich der Blutfette untersuchten Patienten hatten etwa 10 % (395 Patienten) erhöhte Blutfettwerte. 22 dieser Patienten (5,6 % der Fälle mit Blutfettstörungen, bzw. 0,55 % der Gesamtpatientenzahl) waren durch das Lipoproteinmuster in der Elektrophorese verdächtig auf eine Hyperlipoproteinämie Typ III.

Während sich die Typen I, II a, IV und V der Hyperlipoproteinämie in der Regel schon nach Anfertigung einer Elektrophorese, der Betrachtung des Serums (trüb, klar), der Bestimmung der lipolytischen Aktivität und den in jedem Falle durchzuführenden Cholesterin- und Triglyzeridbestimmungen differenzieren lassen, kann man nach Durchführung dieser Untersuchungen für Typ III höchstens eine Vermutungsdiagnose aussprechen. Bei dieser Stoffwechselkrankheit ist im Serum nämlich ein abnormes Lipoprotein vorhanden, das sich elektrophoretisch zwar wie ein β -Lipoprotein verhält, in der Ultrazentrifuge jedoch mit den Prä- β -Lipoproteinen flotiert, d.h. eine Dichte $\rho < 1,006 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ besitzt. Die nach der Lipoproteinelektrophorese gestellte Vermutungsdiagnose stützt sich auf das Vorhandensein einer sogenannten " breiten β -Bande ", einer Bande, die von den β - bis zu den Prä- β -Lipoproteinen reicht, ohne einen dazwischen liegenden helleren Bereich erkennen zu lassen.

Eine Möglichkeit zur immunologischen Diagnostik des Typ III ist kürzlich von SEIDEL und GRETEN (42) angegeben worden. Dabei unterzieht man verdächtige Seren einer Immunelektrophorese mit aus Kaninchen gewonnenem, gegen das abnorme Lipoprotein gerichtetem Antiserum. Allerdings stimmen die Ergebnisse der immunologischen Untersuchung und die der Ultrazentrifuge nicht immer überein (35).

Patienten, die an einer Hyperlipoproteinämie Typ III leiden, haben häufig tendinöse und/oder tuberöse Xanthome (10, 12, 19, 33). Oft sind auch periorbitale Xanthelasmae und ein arcus lipoides corneae zu beobachten. Charakteristisch und nahezu pathognomonisch, wenn vorhanden, sind eigenartige gelbliche Ablagerungen in den Falten der Handinnenfläche sowie an Stellen, an denen Ringe getragen werden. Diese Form von Xanthomen wird sonst bei keiner Hyperlipoproteinämie gesehen (10, 12). Charakteristisch sind auch von Patient zu Patient starke Schwankungen sowohl innerhalb der Cholesterin- als auch der Triglyzeridkonzentrationen. So kann man Cholesterinwerte zwischen $200 - 1.500 \frac{\text{mg}}{100 \text{ ml}}$ und Triglyzeridwerte zwischen $100 - >1.500 \frac{\text{mg}}{100 \text{ ml}}$ beobachten (16). Dementsprechend findet man bei dieser Hyperlipoproteinämie teils klares, teils trübes Serum. Im Gefolge dieser Krankheit kommt es oft zu einer frühzeitigen, bedrohlichen Arteriosklerose (35). Meist wird die Hyperlipoproteinämie Typ III erst nach dem zwanzigsten Lebensjahr diagnostiziert (12), aber es ist auch ein Fall bei einem zehnjährigen Jungen beschrieben (13). Beim Fehlen äußerer Merkmale, wie etwa der Xanthome, sind erst der frühe Herzinfarkt oder das Auftreten peripherer Verschlusskrankheiten Anlaß für den Arzt, nach dieser Stoffwechselkrankheit zu suchen.

Die Ätiologie der Hyperlipoproteinämie Typ III ist noch weitgehend ungeklärt. Manche Zeichen deuten auf einen Defekt beim Abbau der Prä- β -Lipoproteine in kleinere Einheiten hin (11, 33), aber auch die Anwesenheit eines von vornherein anomalen Lipoproteins wird angenommen (12). Das Auftreten der Stoffwechselstörung ist an die Homozygotie des verantwortlichen Allelpaars geknüpft (12, 43), Heterozygotie zieht nur uncharakteristische Veränderungen nach sich (43).

In seiner grundlegenden Arbeit (12) teilt FREDRICKSON mit, daß die Hyperlipoproteinämie Typ III - verglichen mit den anderen Hyperlipoproteinämien - relativ selten sei; auch GRETEN und SEIDEL et al. sind dieser Ansicht (17). Dage-

gen sind REIMERS, HUTH und Mitarb. auf Grund ihrer Forschungsergebnisse der Auffassung, daß diese Stoffwechselstörung bei weitem nicht so selten ist, wie bisher vielerseits angenommen wurde (35).

In unserem Krankengut ist die Hyperlipoproteinämie Typ III jedenfalls ausgesprochen selten; mit detaillierter Diagnostik konnten lediglich zwei Patienten mit dieser Stoffwechselstörung aufgefunden werden. Weitere epidemiologische Untersuchungen mit der beschriebenen Technik sind notwendig, um die wirkliche Verteilung des Typ III in der Bevölkerung aufzuklären.

Weiterhin zeigte sich, daß trotz der ständigen Weiterentwicklung und Verfeinerung der elektrophoretischen Methodik nach wie vor zur Diagnostik der Hyperlipoproteinämie Typ III eine Ultrazentrifugation nötig ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

- 5.1. Unter den fettstoffwechselgestörten Patienten der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Marburg wurden diejenigen ausgesucht, deren routinemäßig angefertigte Lipoproteinelektrophorese auf eine Hyperlipoproteinämie Typ III schließen ließ. Bei den verdächtigen 22 Patienten wurden das Gesamt-Cholesterin und die Triglyceride bestimmt, sowie die Seren bei einer Dichte von $\rho = 1,005 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ ultrazentrifugiert; vom Überstand, vom Sediment wie auch vom nicht zentrifugierten Serum wurden Elektrophoresen angefertigt.
- 5.2. Es zeigte sich, daß von den 22 Typ-III-verdächtigen Patienten nur zwei ein bei der angegebenen Dichte flotierendes β -Lipoprotein - das Charakteristikum dieser Stoffwechselstörung - aufwiesen.
- 5.3. Es werden die allgemeinen Kriterien des Typ III sowie spezielle diagnostische Verfahren erörtert und versucht, die Ergebnisse der Untersuchung im Rahmen der Forschungen zur Häufigkeitsverteilung des Typ III darzustellen.
- 5.4. Es ergibt sich, daß - zumindest im Einzugsgebiet der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Marburg - die Hyperlipoproteinämie Typ III eine sehr seltene Erkrankung darstellt. Weiterhin folgt, daß zur Diagnose des Typ III die Lipoproteinelektrophorese allein nicht ausreicht, sondern eine Untersuchung in der Ultrazentrifuge nötig ist.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBRINK, M. J., MAN, E. B., Serum triglycerides in coronary artery disease, Arch. intern. Med. 103 4 (1959)
2. BROWN, D. F., DOYLE, J. T., KINCH, S. H., Serum triglycerides in health an ischemic heart disease, New Engl. J. Med. 273 947 (1965)
3. CARLSON, L. A., Serum lipids in men with myocardial infarction, Acta med. scand. 167 399 (1960)
4. CHAPMAN, J. M., MASSEY F. J., The interrelationship of serum cholestrol, hypertension, body weight, and risk of coronary disease, J. chron. Dis. 17 933 (1964)
5. DAWBER, T. R., MOORE, F. E., MANN, G. V., Coronary heart disease in the Framingham Study, Amer. J. Publ. Hlth. 47 4 (1957)
6. DE LALLA, O. F., GOFMAN, J. W., Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins, In: Methods of biochemical analysis, edited by D. Glick, S. 459, Interscience New York (1954)
7. DOYLE, J. T., HESLIN, S., HILLEBOE, H. E., FORMEL, P., Early diagnosis of ischemic heart disease, New Engl. J. Med. 261 1096 (1959)
8. EGGSTEIN, M., Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. II. Mitteilung. Zuverlässigkeit der Methode, andere Neutralfettbestimmungen, Normalwerte für Triglyceride und Glycerin im menschlichen Blut, Klin. Wschr. 44 267 (1966)
9. EGGSTEIN, M., KREUTZ, F. H., Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. I. Mitteilung. Prinzip, Durchführung und Besprechung der Methode, Klin. Wschr. 44 262 (1966)
10. FLEISCHMAJER, R., Familial hyperlipoproteinemia type III, Arch. Derm. 100 401 (1969)
11. FREDRICKSON, D. S., unveröffentlichte Ergebnisse
12. FREDRICKSON, D. S., LEVY, R. I., LEES, R. S., Fat transport in lipoproteins - an integrated approach to mechanisms and disorders, New Engl. J. Med., 276 34, 94, 148, 215, 273 (1967)
13. GODOLPHIN, W. J., CONRADI, G., CAMPBELL, D. J., Type-III hyperlipoproteinemia in a child, Lancet 209 (1972)
14. GOFMAN, J. W., DE LALLA, O. F., GLAZIER, F., FREEMAN, N., LINDGREN, F., NICHOLS, A., STRISOWER, B., TAMPLIN, A., Serum lipoprotein transport system in health, metabolic disorders, atherosclerosis and coronary artery disease, Plasma (Milano) 2 413 (1954)

15. GOFMAN, J. W., LINDGREN, F. T., ELLIOTT, H., Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum, J. biol. Chem. 179 973 (1949)
16. GRETEN, H., Klinik und Klassifizierung primärer Hyperlipoproteinämien, In: Fettstoffwechselstörungen - ihre Erkennung und Behandlung, herausgegeben von G. Schettler, S. 4 Thieme (1971)
17. GRETEN, H., SEIDEL, D., WALTER, B., KOLBE, J., Die Lipoproteinelektrophorese zur Diagnose von Hyperlipoproteinämien, Dtsch. med. Wschr. 95 1716 (1970)
18. HAYES, D., NEIL, D. W., Serum cholestrol and triglycerides in ischemic heart disease, Clin. Sci. 26 185 (1964)
19. HAZZARD, W. R., LINDGREN, F. T., BIERMAN, E. L., Very low density lipoprotein subfractions in a subject with broad- β -disease (type III hyperlipoproteinemia) and a subject with endogenous lipemia (type IV). Chemical composition and electrophoretic mobility, Biochim. Biophys. Acta 202 517 (1970)
20. modifiziert nach KAFFARNIK, H., Klinische und biochemische Untersuchungen von essentiellen, symptomatischen und induzierten Vermehrungen der Serumlipide, Habilitations-Schrift, Marburg 1968
21. KAHLKE, W., RAPP, W., Pathologische Muster von Serumlipoproteinen, dargestellt mit einer neuen Methode der Lipoprotein-Elektrophorese, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 73 829 (1967)
22. KAHLKE, W., Elektrophoretische Auftrennung der Lipoproteine des Serums, Ärztl. Lab. 14 495 (1968)
23. KAHLKE, W., SCHLIERF, G., PAPENBERG, J., Lipoprotein patterns in primary hyperlipidemias, as registered by Agarose gel electrophoresis, In: Drugs affecting Lipid Metabolism, S. 621 Plenum Press 1969
24. KEYS, A., KIMURA, N., KUSUKAWA, A., BRONIE-STEWART, B., LARSON, N., KEYS, M. H., Lessons from serum cholestrol studies in Japan, Hawaii and Los Angelos, Ann. Intern. Med. 48 83 (1958)
25. KEYS, A., Serum cholestrol and relative body weight of coronary patients in different populations, Circulation 22 1091 (1960)
26. KEYS, A., TAYLOR, H. L., BLACKBURN, H., BROZEK, J., ANDERSON, J. T., SIMONSON, E., Coronary heart disease among Minnesota business and professional men followed fifteen years, Circulation 28 381 (1963)
27. KEYS, A., Epidemiologic aspects of coronary artery disease, J. chron. Dis. 6 552 (1967)
28. LINDGREN, F. T., ELLIOTT, H. A., GOFMAN, J. W., Ultracentrifugal characterization and isolation of human blood lipids and lipoproteins, J. Phys. Chem. 55 80 (1951)

29. LINDGREN, F. T., FREEMAN, T., NORMAN, K., NICHOLS, A. V., GOFMAN, J. W., The physical chemistry of lipoprotein transformation, In: Third international conference on biochemical problems of lipids, S. 224 Brussels 1956
30. NICOLAYSEN, R., WESTLUND, K., Plasma lipids in coronary heart disease, Scand. J. clin. Lab. 15 291 (1963)
31. PAUL, O., LEPPER, M. H., PHELAN, W. H., DUPERTUIS, G. W., MACMILLAN, A., MACKEAN, H., PARK, H., A longitudinal study of coronary heart disease, Circulation 28 20 (1963)
32. POZNER, H., BILLIMORIA, J. C., Effect of smoking on blood-clotting and lipid and lipoprotein levels, Lancet 1318 (1970)
33. QUARFORDT, S., LEVY, R. I., FREDRICKSON, D. S., On the lipoprotein abnormality in type III hyperlipoproteinemia, J. Clin. Invest. 50 754 (1971)
34. RAAB, W., Alimentäre Faktoren in der Entstehung von Arteriosklerose und Hypertonie, Med. Klin. 28 521 (1932)
35. REIMERS, H. J., HUTH, K., SCHOENBORN, W., FUHRMANN, W., Zur Klinik der Typ-III-Hyperlipoproteinämie, Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 77 596 (1971)
36. RICHTERICH, R., LAUBER, K., Bestimmung des Gesamtcholesterins im Serum; VIII. Mitteilung über Ultramikromethoden im klinischen Laboratorium, Klin. Wschr. 40 1252 (1962)
37. SCHETTLER, G., Arteriosklerose und Cholesterinstoffwechsel, Dtsch. med. Wschr. 27/28 989 (1953)
38. SCHETTLER, G., Über die Lipoproteide, Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 62 767 (1956)
39. SCHETTLER, G., DIETRICH, F., EGGSTEIN, M., JOBST, H., Zur Bestimmung der Serumlipoproteide mit der Zonen-elektrophorese im Stärkemedium, Klin. Wschr. 35 268 (1957)
40. SCHETTLER, G., Klinische Lipidforschung, Z. klin. Chem. 1 6 (1953)
41. SCHMIDT, F. H., VON DAHL, K., Zur Methode der enzymatischen Neutralfettbestimmung in biologischem Material, Z. klin. Chem. 6 156 (1968)
42. SEIDEL, D., GRETEN, H., Hyperlipoproteinämie-Typ III - eine Möglichkeit zur immunologischen Diagnostik, Clin. Chim. Acta 30 31 (1970)
43. ŠOBRA, J., HEYROVSKÝ, A., Congenital defects of the lipid metabolism. XXV. Familial hyperlipoproteinemia type III - detection of heterozygotes, Čas. Lék. čes. 111 192 (1972)

44. STAMLER, J., LINDBERG, H. A., BERKSON, W. H., SHAFFER, A., MILLER, W., POINDEXTER, A., Prevalence and incidence of coronary heart disease in strata of the labor force of a Chicago industrial corporation, J. chron. Dis. 11 405 (1960)
45. WATSON, D., A simple method for the determination of serum cholestrol, Clin. Chim. Acta 5 637 (1960)
46. YUDKIN, J., Nutrition and palatability, with special reference to obesity, myocardial infarction, and other diseases of civilization, Lancet 1335 (1963)

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. D. Klaus gilt mein Dank für die Möglichkeit der wissenschaftlichen Arbeit an der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg.

Herrn Prof. Dr. med. H. Kaffarnik bin ich zu großem Dank für die Überlassung des Themas verpflichtet.

Herrn Dr. med. J. Schneider danke ich für wertvolle Hinweise und Ratschläge.

LEBENS LAUF

Ich, Michael Maurer, wurde am 26. Dezember 1948 als Sohn des Filmproduzenten Wilhelm Maurer und seiner Ehefrau Lieselotte, geb. Grau, in Augsburg/Bayern geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Augsburg und Schrobenhausen/Oberbayern und des math.-nat. Gymnasiums in Schrobenhausen legte ich an diesem im Juli 1968 die Reifeprüfung ab.

Das Studium der Zahnmedizin nahm ich im WS 1968/69 in Marburg auf, wo ich im Herbst 1969 die naturwissenschaftliche und im Frühjahr 1971 die zahnärztliche Vorprüfung bestand. Seit Ende des SS 1973 stehe ich im Staatsexamen, bestanden am 7. Dez. 1973.

Marburg, den 16. Juli 1973

Michael Maurer

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren und Dozenten:

Amon, Aurich, Bernhardt, Braasch, Dehnicke, Dimroth, Englhardt, Goebell, Golenhofen, Haan, Haberich, Hennis, Hensel, Hering, Heuser, Hildebrandt, Hort, Janke, Karlson, Kastenholz, Keil, Koecke, Korb, Kühnel, Nöth, Niemeyer, Petry, Pfütz, Riecken, Rohen, Rosemann, Rupec, Schiff, Schmidt, Schmitz-Moormann, Schneider, Schnell, Seidel, Sekeris, Walcher, Wehrmeyer, Wesemann, Wiegandt.

